

С.С. Осочук, А.П. Солодков,  
В.Л. Шелюто

## ИЗУЧЕНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ФЛАВОНОИДНОГО КОМПЛЕКСА ЛИСТЬЕВ *SALIX ACUTIFOLIA* (ИВЫ ОСТРОЛИСТНОЙ) НА МОДЕЛИ ТЕТРАХЛОРМЕТАН-АКТИВИРУЕМОГО СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ

Витебский государственный  
медицинский университет

Флавоноидный комплекс листьев *Salix acutifolia* (ивы остролистной) проявляет противовирусную активность и является перспективным источником для создания на его основе противогерпетических отечественных препаратов [15].

Флавоноидный комплекс листьев ивы остролистной обладает также противовоспалительной и желчегонной активностью.

Данное сообщение посвящено изучению антиоксидантной активности флавоноидного комплекса листьев ивы остролистной.

В задачи исследования входило:

- изучить на модели тетрахлорметан (ТХМ) – активируемого свободнорадикального окисления изменение содержания начальных и конечных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной активности плазмы крови на фоне различной продолжительности введения флавоноидного комплекса листьев ивы остролистной;
- выяснить влияние флавоноидного комплекса на выраженность накопления продуктов ПОЛ в ткани печени крыс и изменение активности основных ферментов антиоксидантной защиты клетки: супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатионредуктазы.

Объектом для исследования служил флавоноидный комплекс, выделенный из листьев ивы остролистной. Крысам один раз в сутки зондом внутрижелудочно вводили данный препарат в 1% крахмальном клейстере в дозе 25 мг на 100г массы тела крысы. Данная доза была выбрана на основании ранее проведенных исследований

на кафедре общей и клинической фармакологии ВГМУ по выяснению холеретических свойств флавоноидного комплекса. Опыты были выполнены на 30 белых беспородных крысах – самцах с массой тела 180 – 280 г. Было выделено 5 групп по 6 крыс в каждой:

1-ая – контрольные животные;

2-ая – крысы, получавшие препарат однократно;

3-ая – крысы, получавшие препарат в течение 5 дней;

4-ая – крысы, получавшие препарат в течение 10 дней;

5-ая – крысы, которым внутрижелудочно вводили только ТХМ в дозе 0,4 мл на 100г массы тела.

Контрольным животным внутрижелудочно вводили только подсолнечное масло.

### Создание модели и ее характеристика.

Через 2 часа после последнего введения препарата всем опытным крысам вводили масляный раствор ТХМ (1:1 по объему) на подсолнечном масле. Плазму крови и ткань печени забирали через сутки после введения ТХМ.

Считают, что основным повреждающим механизмом при действии ТХМ является усиление процессов образования перекисей липидов в мембранах эндоплазматического ретикулула (Владимиров Ю.Я. и др., 1972; Губский Ю.И., 1989; Cheeseman K.N. et al., 1986; Yalcin A., 1986). Вначале наблюдается повреждение эндоплазматического ретикулула и накопление липоперекисей в печени, позже повреждаются лизосомы, ядра и через несколько часов появляются изменения в митохондриях и плазматических мембранах. В результате метаболических преобразований ТХМ появляется свободный радикал  $\text{CCL}_3$  и его производное  $\text{CCL}_3\text{O}_2$ , который реагирует с ненасыщенными жирными кислотами, вызывая цепную реакцию свободнорадикального окисления (Ffnnelli S.L. et al., 1986; Mason R.P., 1982). ТХМ восстанавливается при участии цитохрома P-450 (Rana S.V. et al., 1993), который при этом переходит в неактивное состояние цитохром P-420 (Бородин Е.А. и др., 1985). У животных с низким содержанием цитохрома P-450 от-

мечается низкая чувствительность к действию ТХМ. Введение ТХМ вызывает характерные зональные повреждения центральных областей долек печени. Это объясняют тем, что активные свободнорадикальные метаболиты оказывают повреждающее действие на ткань печени прежде всего в местах их образования (Rana S.V. et al., 1993).

В плазме крови крыс определяли концентрацию диеновых конъюгатов (Гаврилов В.Б. и соавт., 1988), малонового диальдегида (Андреева Л.И. и др., 1988), антиокислительную активность крови (Клебанов Г.И., 1988), общий белок и общие липиды плазмы крови.

В ткани печени, кроме диеновых конъюгатов и малонового диальдегида, определяли активность каталазы (Королук М.А. и др., 1988), супероксиддисмутазы (Beauchamp C. и др., 1971) и глутатионредуктазы (Ohyashiki T., Ohtsuka T. и др., 1989).

После декапитации у крысы быстро забирали печень, замораживали в жидком азоте и до обработки сохраняли в сосудах Дюара. Печень гомогенизировали в трис-буфере (рН 7.4, 1:5). В гомогенате печени определяли диеновые конъюгаты и малоновый диальдегид. Результаты выражали на грамм белка соответственно. Активность супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионредуктазы определяли в супернатанте полученном при центрифугировании гомогената на холоду в течение 30 мин при 15 тыс. об/мин.

Цифровой материал обработали методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Введение ТХМ сопровождалось изменением концентрации диеновых конъюгатов на 17% и приводило к увеличению малонового диальдегида почти в 4 раза по сравнению с контрольной группой. Антиокислительная активность плазмы крови снижалась на 17,3%. На фоне однократного приема флавоноидного комплекса ТХМ приводил к увеличению концентрации МДА всего лишь на 60%, тогда как концентрация диеновых конъюгатов и антиокислительная активность плазмы крови достоверно не отличалась от контроля.

В плазме крови крыс, получавших флавоноидный комплекс в течение 5 дней, после введения ТХМ концентрация диеновых конъюгатов и антиокислительная активность плазмы крови не изменялись, а содержание малонового диальдегида увеличилось на 73%.

После 10-дневного введения флавоноидного комплекса ТХМ приводил к увеличению содержания малонового диальдегида на 107%, и не изменял уровень диеновых конъюгатов. Антиокислительная активность плазмы крови на данном сроке введения также не отличалась от контроля.

Таким образом, введение препарата существенно ограничивало накопление конечных продуктов ПОЛ, несколько снижая содержание начальных продуктов и полностью предупреждало уменьшение антиокислительной активности плазмы крови. Необходимо отметить, что по мере увеличения продолжительности введения препарата его эффект в отношении ТХМ-активируемого накопления малонового диальдегида становится менее выраженным. Введение ТХМ животным, не получавшим препарат, сопровождалось увеличением малонового диальдегида на 32,4%, снижение активности супероксиддисмутазы в 2,2 раза. Содержание диеновых конъюгатов, а также активность каталазы и глутатионредуктазы достоверно не изменялись. После однократного применения препарата наблюдалось только снижение малонового диальдегида на 31%. Введение препарата в течение 5 дней потенцировало накопление малонового диальдегида, возможно, по причине снижения активности глутатионредуктазы. При этом концентрация малонового диальдегида возросла в 2 раза, активность глутатионредуктазы уменьшилась на 29,3%, а супероксиддисмутазы и каталазы не изменились.

Увеличение продолжительности введения препарата до 10 дней полностью предупредило изменение показателей активности ПОЛ и антиоксидантных ферментов.

Таким образом, однократное введение флавоноидного комплекса предотвращало изменения, вызванные ТХМ. Увеличение введения препарата до 10 дней существен-

ного влияния на выраженность эффекта не оказало.

### Литература.

1. Владимиров Ю.Я., Арчаков А.Н. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.- М.: Наука, 1972.- 252 с.
2. Губский Ю.И. Коррекция химического поражения печени.- Киев: Здоровья, 1989.- 165с.
3. Cheeseman K.N., Collins M. Et al. Studies on lipid peroxidation in normal and tumour tissues. The Novicff rat liver tumor//Biochem. J. -1986.- Vol. 235, N2.- P.507-514.
4. Yalcin A., Aykac C. Et al. Stimulation of lipid peroxidation and impairment of glutathione-dependent defence system in the liver of rats repeatedly treated with carbon tetrachloride// J.Appl. Toxicol.-1986.- Vol.6, N4.-P.303-306.
5. Ffnnelli S.L., Castro J.A. Carbon tetrachloride promoted malondialdehyde formatin in liver microsomal and nuclear preparations from Sprague Dawley or Osborn Mendel male rats// Res. Commun. Chtm. Pathol. Pharmacol.-1993.-Vol.82, N2. -P. 233-236.
6. Mason R.P. Free-radical intermediates in the metabolism of toxic chemicals// Free-Radicals in Biology./Ed. By W.A. Pryor.- N.Y.: Academic Press Inc.,1982.-Vol.5.- P.161-222.
7. Rana S.V., Rastogi S. Antioxidant enzymes in the liver of rats treated with carbon tetrachloride after parathyroidectomy// Phisiol. Chem. Phys. Med.NMR.,- 1993.-Vol.25,N1.-P.41-47.
8. Бородин Е.А., Арчаков А.И., Лопухин Ю.М. Теоретическое обоснование использования ненасыщенных фосфолипидов для восстановления структуры и функции повреждения биологических мембран//Вестник АМН СССР. - 1985.- №3. -С. 84-90.
9. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Хмара Н.Ф. Измерение диеновых конъюгатов в плазме по ультрафиолетовому поглощению гаптеновых и изопропильных экстрактов.// Лаб. дело. -1998.-№2. С.60-64.
10. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А., Кикшун А.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой.//Лаб.дело. -1988.-№11.-С.41-43.
11. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Комаров О.С., Владимиров Ю.А. Оценка антиоксидантной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов//Лаб.дело. - 1988.-№5.-С.59-62.
12. Королюк М.А., Иванова Л.И., Маморова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы.//Лаб.дело. - 1988. -№ 1.- С.16-19.
13. Beauchamp C., Fridovich J. Superoxide dismutase: impruved assaya and an assay applicable acrilamide gels//Analyt Biochem.-1971.-Vol.44.,N1.-P.276-287.
14. Ohyashiki T., Ohtsuka T., Mohri N. Increase in the molecular rigidity of the protein conformation the intestinal bruth-border memranesby lipid peroxidation//Biochem. And Biophys. Acta: Biomembranes.-1988.-Vol.939 (M.157),N2.- P. 383-392.
15. А. С. 491387 СССР, МКл А61К27/14. Флавоноидные соединения, проявляющие противогерпетическую активность/С.А Вичканова, Л.Д. Шипулина, А.И. Баньковский, В.И. Глызин, В.Л. Шелюто (СССР).-№2041200/28-13; Заявлено 18.07.74; Оpubл. 15.11.75, Бюл.№42.